

РСТ

ВСЕМИРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ  
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ  
Международное бюро

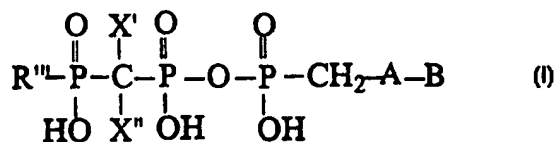


МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В СООТВЕТСТВИИ  
С ДОГОВОРом О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)

(51) Международная классификация изобретения <sup>6</sup> : C07H 19/10, 19/207	A1	(11) Номер международной публикации: WO 98/20017 (43) Дата международной публикации: 14 мая 1998 (14.05.98)
(21) Номер международной заявки: PCT/RU97/00348 (22) Дата международной подачи: 5 ноября 1997 (05.11.97) (30) Данные о приоритете: 96121584 5 ноября 1996 (05.11.96) RU (71) Заявитель (для всех указанных государств, кроме US): ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО «ПРОИЗВОДСТВЕННО-КОММЕРЧЕСКАЯ АССОЦИАЦИЯ АЗТ» [RU/RU]; 121552 Москва, ул. 3 Черепковская, д. 15а (RU) [ZAKRYTOE AKTSIONERNOE OBSHESTVO "PROIZVODSTVENNO-KOMMERCHESKAYA ASSOTSIATSLIA AZT", Moscow (RU)]. (72) Изобретатели; и (75) Изобретатели / Заявители (только для US): ДЯТКИНА Наталья Борисовна [RU/RU]; 117342 Москва, ул. Генерала Антонова, д. 7, корп. 1, кв. 131 (RU) [DYATKINA, Nataliya Borisovna, Moscow (RU)]. АРЗУМАНОВ Андрей Александрович [RU/RU]; 119261 Москва, ул. Вавилова, д. 86, кв. 106 (RU) [ARZUMANOV, Andrei Alexandrovich, Moscow (RU)]. ШИРОКОВА Елена Анатольевна [RU/RU]; 117437 Москва, ул. Академика Арцимовича, д. 9,		кв. 17 (RU) [SHIROKOVA, Elena Anatolievna, Moscow (RU)]. ЯСЬКО Максим Владимирович [RU/RU]; 111396 Москва, Зелёный пр., д. 40, корп. 1, кв. 37 (RU) [YASKO, Maxim Vladimirovich, Moscow (RU)]. АЛЕКСАНДРОВА Людмила Александровна [RU/RU]; 117312 Москва, ул. Ферсмана, д. 3, кв. 70 (RU) [ALEXANDROVA, Ljudmila Alexandrovna, Moscow (RU)]. ВИКТОРОВА Любовь Семёновна [RU/RU]; 143040 Голицино, Московской обл., ул. Советская, д. 56, корп. 2, кв. 88 (RU) [VIKTOROVA, Ljubov Seme-povna, Golitsino (RU)]. ГОРЮНОВА Людмила Евгеньевна [RU/RU]; 121552 Москва, ул. Академика Павлова, д. 48, кв. 41 (RU) [GORJUNOVA, Ljudmila Evgenievna, Moscow (RU)]. БИБИЛАШВИЛИ Роберт Шалвович [RU/RU]; 121170 Москва, Кутузовский пр., д. 43, кв. 85 (RU) [BIBILASHVILI, Robert Shalvovich, Moscow (RU)]. КРАЕВСКИЙ Александр Антонович [RU/RU]; 117321 Москва, ул. Профсоюзная, д. 132, корп. 4, кв. 111 (RU) [KRAEVSKY, Alex-andr Antonovich, Moscow (RU)]. (81) Указанные государства: CA, CN, JP, KR, US, европейский патент (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Опубликована С отчетом о международном поиске.

(54) Title: MODIFIED NUCLEOSIDE-5'-TRIPHOSPHATES

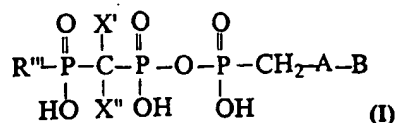
(54) Название изобретения: МОДИФИЦИРОВАННЫЕ НУКЛЕОЗИД-5'-ТРИФОСФАТЫ



(57) Abstract

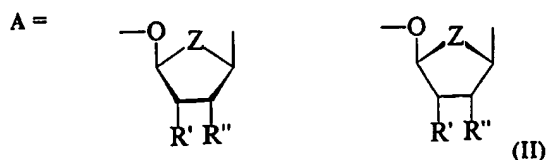
The invention relates to the field of molecular biology and virology, and in particular to new nucleoside-5'-triphosphates which have been modified with respect to P- $\alpha, \beta, \gamma$  and to the sugar residue, and which correspond to general formula (I) wherein B = thymine, adenine, uracil, guanine, cytosine or uracil substituted at the position 5; A = (II); R' = H, N<sub>3</sub>, SH, NH<sub>2</sub>, F, Cl, CN, NCO, NCS, NOH; R'' = H or R' and R'' together form a double bond; Z = O, CH<sub>2</sub>; R''' = Alkyl, Aryl, OAlkyl, OAryl, NHAryl, O-Gly; X' = X'' = H, Br, F; or X' = H and X'' = F, Br, NH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, NHAryl, or X' = F and X'' = Br; or X' = CH<sub>3</sub> and X'' = NH<sub>2</sub>. The new compounds are inhibitors or substrates of DNA polymerases and antiviral agents; they are capable in particular of inhibiting the reproduction of the human immunodeficiency virus in a culture of human lymphocytes. The modified nucleoside 5'-triphosphates are obtained by condensing a modified mononucleotide activated by means of N,N'-carbonyldiimidazol with a modified triphosphate. The antiviral action of the new compounds on HIV is comparable with that of azidothymidine.

Изобретение относится к области молекулярной биологии и вирусологии, а именно, к новым модифицированным по Р- $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$  и сахарному остатку нуклеозид-5'-трифосфатам общей формулы:



где:

B = тимин, аденин, урацил, гуанин, цитозин или урацил, замещенный в 5-положении



R' = H, N<sub>3</sub>, SH, NH<sub>2</sub>, F, Cl, CN, NCO, NCS, NON

R'' = H или R' и R'' вместе образуют двойную связь

Z = O, CH<sub>2</sub>

R''' = Alkyl, Aryl, OAlkyl, OAryl, NHalkyl, NHAryl, O-Gly

X' = X'' = H, Br, F; или X' = H, а X'' = F, Br, NH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>,

NHalk, NHAryl; или X' = F, а X'' = Br; или X' = CH<sub>3</sub>, а

X'' = NH<sub>2</sub>.

Новые соединения являются ингибиторами или субстратами ДНК-полимераз и антивирусными агентами, в частности, они способны ингибировать репродукцию вируса иммунодефицита человека в культуре лимфоцитов человека.

Модифицированные нуклеозид-5'-трифосфаты получают конденсацией активированного с помощью N,N'-карбонилдимидазола модифицированного мононуклеотида с модифицированным трифосфатом.

Антивирусная активность новых соединений в отношении ВИЧ соизмерима с таковой для азидотимидина.

## ИСКЛЮЧИТЕЛЬНО ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ИНФОРМАЦИИ

Коды, используемые для обозначения стран-членов РСТ на титульных листах брошюр, в которых публикуются международные заявки в соответствии с РСТ.

AT	Австрия	FI	Финляндия	MR	Мавритания
AU	Австралия	FR	Франция	MW	Малави
BB	Барбадос	GA	Габон	NE	Нигер
BE	Бельгия	GB	Великобритания	NL	Нидерланды
BF	Буркина Фасо	GN	Гвинея	NO	Норвегия
BG	Болгария	GR	Греция	NZ	Новая Зеландия
BJ	Бенин	HU	Венгрия	PL	Польша
BR	Бразилия	IE	Ирландия	PT	Португалия
CA	Канада	IT	Италия	RO	Румыния
CF	Центральноафриканская Республика	JP	Япония	RU	Российская Федерация
BY	Беларусь	KP	Корейская Народно-Демократическая Республика	SD	Судан
CG	Конго	KR	Корейская Республика	SE	Швеция
CH	Швейцария	KZ	Казахстан	SI	Словения
CI	Кот д'Ивуар	LI	Лихтенштейн	SK	Словакия
CM	Камерун	LK	Шри-Ланка	SN	Сенегал
CN	Китай	LU	Люксембург	TD	Чад
CS	Чехословакия	LV	Латвия	TG	Того
CZ	Чешская Республика	MC	Монако	UA	Украина
DE	Германия	MG	Малагаскар	US	Соединенные Штаты Америки
DK	Дания	ML	Мали	UZ	Узбекистан
ES	Испания	MN	Монголия	VN	Вьетнам

## Модифицированные нуклеозид-5'-трифосфаты

### Область техники

Изобретение относится к области молекулярной биологии и вирусологии, а точнее к модифицированным по Р-  $\alpha, \beta, \gamma$  и сахарному остаткам нуклеозид-5'-трифосфатам D- и L-рядов, которые являются ингибиторами или субстратами ДНК-полимераз и антивирусными агентами, в том числе, ингибиторами репродукции ВИЧ в культуре лимфоцитов человека.

### Предшествующий уровень техники

В настоящее время известны различные соединения, подавляющие репродукцию вируса иммунодефицита человека. Наиболее эффективным из известных соединений является 3'-азидо-3'-дезокситимидин (азидотимидин или AZT), находящий применение в медицинской практике (Mitsuya, H.; Broder, S. Inhibition of the *in vitro* infectivity and cytopathic effect of human T-lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus/HTLV-III(LAV) by 2',3'-dideoxynucleosides. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1986, 83, 1911-1915). Молекулярный механизм действия указанного соединения включает диффузию его внутрь клетки, инфицированной ВИЧ. Далее он подвергается трифосфорилированию и специфично блокирует синтез ДНК, катализируемый обратной транскриптазой ВИЧ. Аналогичным образом действуют другие противовирусные нуклеозиды, применяемые в медицинской практике для лечения СПИД: 2',3'-дидезоксицитидин и, 2',3'-дидезоксиинозин (Mitsuya, H.; Broder, S. Inhibition of the *in vitro* infectivity and cytopathic effect of human T-lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus (HTLV-III/LAV) by 2',3'-dideoxynucleosides. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986,

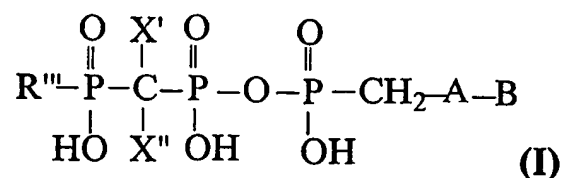
83, 1911-1915), 2',3'-дидезокси-2',3'-дидегидротимидин (Herdewijn, P.; Balzarini, J.; DeClercq, E.; et al., 3'-Substituted 2',3'-dideoxynucleoside analogues as potential anti-HIV (HTLV/LAV) agents. *J. Med. Chem.*, 1987, 30, 1270-1278) и 2',3'-дидезокси-3'-тиотимидин (Soudeyins, H.; Yao, Q.; et al., Anti-human immunodeficiency virus type 1 activity and in vitro toxicity of 2'-deoxy-3'-thiacytidine (BCH-189), a novel heterocyclic nucleoside agents. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1991, 35, 1386-1390). Однако, фосфорилирование модифицированных нуклеозидов клеточными ферментами происходит значительно менее эффективно, чем природных нуклеозидов. Процесс превращения нуклеозида в организме человека в соответствующий 5'-трифосфат занимает около 1,5-2 часов. За это время проникший в клетки вирус успевает в форме провирусной ДНК интегрировать в геном человека. Использование в качестве лекарственных препаратов нуклеозид-5'-трифосфатов с немодифицированной трифосфатной частью невозможно из-за их низкой стабильности к действию ферментов гидролиза и вследствие этого низкой способности проникать внутрь клетки. Таким образом, применяемые препараты, даже если они приняты в момент инфицирования, не могут предотвратить заражения ВИЧ. В качестве противовирусного препарата было предложено использовать производные 3'-азидо-3'-дезокситимидина, содержащие модифицированную фосфатную группу в 5'-положении, а именно Н-фосфонат AZT (Н.Б.Тарусова, А.А.Хорлин, А.А.Краевский, и др., Ингибирование вируса иммунодефицита человека в культуре клеток 5'-фосфонатами 3'-азидо-2',3'-дидезоксинуклеозидов, *Мол.Биол.*, 1989, 23, N6, 1716-1724). Однако, было показано, что в организме это соединение в основном подвергается дефосфорилированию, превращаясь в AZT (Кузнецова Е.В., Куханова М.К., и др., Реакция 5'-Н-фосфонатов,

5'-фторфосфатов и 5'-фосфатов модифицированных тимидинов в плазме крови, *Мол. Биол.*, 1995, 29, N2, 415-420).

### Раскрытие изобретения

В основу изобретения положена задача создания новых нуклеозид-5'-трифосфатов, которые устойчивы к действию ферментов дефосфорилирования, способны проникать внутрь клетки и обладают избирательной активностью в подавлении биосинтеза ДНК, катализируемого обратной транскриптазой ВИЧ.

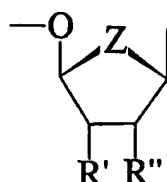
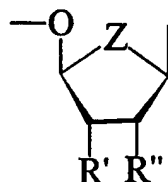
Задача решена тем, что, согласно изобретению, заявляются новые соединения - Р- $\alpha, \beta, \gamma$ -модифицированные нуклеозид-5'-трифосфаты, D и L-ряда общей формулы I:



где:

**B** = тимин, аденин, урацил, гуанин, цитозин или урацил, замещенный в 5-положении

**A** =



(II)

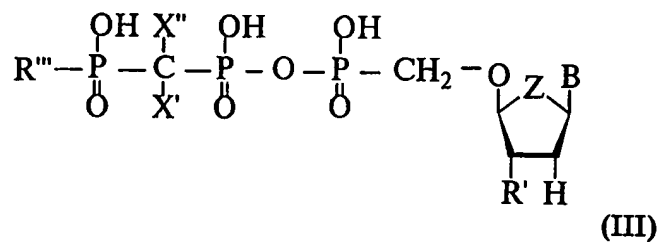
$\text{R}' = \text{H}, \text{N}_3, \text{SH}, \text{NH}_2, \text{F}, \text{Cl}, \text{CN}, \text{NCO}, \text{NCS}, \text{NOH}$

$\text{R}'' = \text{H}$  или  $\text{R}'$  и  $\text{R}''$  вместе образуют двойную связь

$\text{Z} = \text{O}, \text{CH}_2$

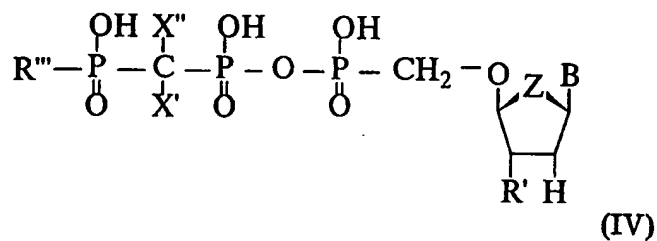
$R''' =$  Alkyl, Aryl, OAlkyl, OAryl, NHAlyl, NHAryl, O-Gly  
 $X'=X'' =$  H, Br, F; или  $X'=H$ , а  $X''=F$ , Br,  $NH_2$ ,  $CH_2NH_2$ ,  
 NHAlyl, NHAryl; или  $X'=F$ , а  $X''=Br$ ; или  $X'=CH_3$ , а  $X''=NH_2$ .

Более конкретно, согласно изобретению, заявляются новые  
 P- $\alpha,\beta,\gamma$ - модифицированные 2'-дезоксинуклеозид-5'-трифосфаты D-  
 ряда формулы:



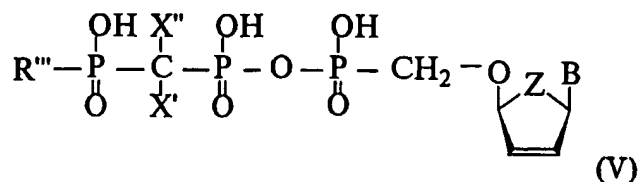
где B, R', R''', Z, X' и X'' имеют вышеуказанные значения.

Заявляются также новые P- $\alpha,\beta,\gamma$ -модифицированные 2'-  
 дезоксинуклеозид-5'-трифосфаты L-ряда формулы:



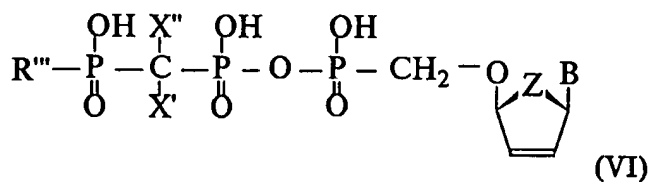
где B, R''', X' и X'' имеют вышеуказанные значения.

Согласно настоящему изобретению заявляются также новые Р- $\alpha,\beta,\gamma$ -модифицированные 2'-дезоксид-2',3'-дидегидронуклеозид-5'-трифосфаты D-ряда формулы:



где В, R''', X' и X'' имеют вышеуказанные значения.

Согласно настоящему изобретению заявляются также новые Р- $\alpha,\beta,\gamma$ -модифицированные 2'-дезоксид-2',3'-дидегидронуклеозид-5'-трифосфаты L-ряда формулы:



где В, R''', X' и X'' имеют вышеуказанные значения.

Новые соединения являются ингибиторами или субстратами ДНК-полимераз и антивирусными агентами.

### Лучшие варианты осуществления изобретения

Новые соединения получают путем активации соответствующим образом модифицированного мононуклеотида с помощью N,N'-карбонилдиимидазола и последующей его конденсации с модифицированным трифосфатом.

Структура заявленных соединений подтверждена методами УФ-, ЯМР- и масс-спектрометрии.

Новые модифицированные нуклеозид 5'-трифосфаты являются терминаторными субстратами обратной транскриптазы вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) и ингибиторами репродукции ВИЧ в культуре лимфоцитов человека, а также обладают способностью предохранять от инфицирования здоровые клетки. Кроме того, заявленные соединения являются специфическими ингибиторами вируса гепатита В в культуре гепатоцитов человека, вирусов группы герпеса в различных клеточных культурах, а также обратных транскриптаз ретровирусов, гепаднавирусов и ДНК-полимераз вирусов группы герпеса.

Изучение ингибирования биосинтеза ДНК заявляемыми соединениями при катализе реакции ДНК-полимеразами проводили с использованием обратной транскриптазы ВИЧ [К.Ф. 2.7.7.49], а также концевой дезоксинуклеотидилтрансферазы из тимуса теленка [К.Ф. 2.7.7.31] ("Amersham"), ДНК-полимеразы а, b и е из плаценты человека. Одноцепочечную ДНК фага M13mp10 выделяли из культуральной жидкости реципиентного штамма *E. coli* K12XL1. Для ДНК-полимераз а, b, е и обратной транскриптазы ВИЧ использовали одноцепочечную ДНК фага M13mp10 в качестве матрицы и в качестве праймера синтетический 2'-дезокситетрадекануклеотид (структура рабочей части комплекса показана на фиг. 1). Для концевой дезоксинуклеотидилтрансферазы использовали тот же праймер, но без матрицы. Праймерный тетрадекануклеотид метили по

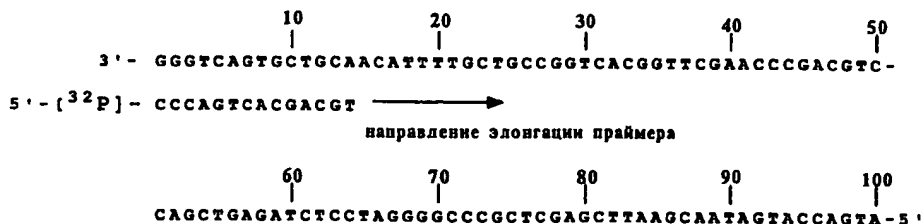


5'-положению с помощью  $[g\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$  (уд. акт. 1500 Ки/ммоль, "Радиоизотоп") при катализе полинуклеотидкиназой фага Т4 ("Amersham").

Условия реакции выбирали в зависимости от свойств соответствующей ДНК-полимеразы (обратной транскриптазы).

Одноцепочечную ДНК фага M13mp10 (0,5 мкМ) гибридизовали с праймером, меченым  $^{32}\text{P}$  по 5'-концу (0,75 мкМ) в следующих буферах: 10 мМ Трис-НСl (рН 8,2), 5 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 40 мМ KCl, 1 мМ дитиотреитол (в случае обратной транскриптазы), 100 мМ какодилат натрия (рН 7,2), 10 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 1 мМ  $\text{CaCl}_2$  и 1 мМ дитиотреитол (в случае концевой дезоксинуклеотидилтрансферазы), 10 мМ Трис-НСl (рН 7,4), 6 мМ  $\text{MgCl}_2$  и 0,4 мМ дитиотреит (в случае ДНК-полимераз  $\alpha$  и  $\epsilon$ ), 10 мМ Трис-НСl (рН 8,5), 6 мМ  $\text{MgCl}_2$  и 0,4 мМ дитиотреитол (в случае ДНК-полимеразы  $\beta$ ).

Исследование ингибиторных свойств соединений в бесклеточной системе с индивидуальным ферментом проводили в 6 мкл инкубационной смеси, содержащей 0,01 мкМ меченого праймер-матричного комплекса, исследуемое соединение, соответствующие природные 2'-дезоксинуклеозид-5'-трифосфаты и фермент (1 ед. активности ДНК-полимераз  $\alpha$ ,  $\epsilon$  и  $\beta$ , 2 ед. активности обратной транскриптазы (ОТ) или 3 ед. активности концевой дезоксинуклеотидилтрансферазы (TdT) в соответствующем буфере (см. выше). Праймер - матричный комплекс имел следующую структуру:



Реакцию начинали добавлением фермента и проводили в течение 20 мин при 37°C. Для остановки реакции добавляли 3 мкл деионизованного формамида, содержащего 20 мкМ EDTA, 0,1%-ный бромфеноловый синий и 0,1%-ный ксиленцианол. Продукты реакции разделяли электрофорезом в 20%-ном денатурирующем ПААГ. Полученные гели подвергали радиоавтографии, используя рентгеновскую пленку Kodak XRP-5. Просчитывали радиоактивность соответствующих полос на геле и определяли концентрацию ингибитора, дающую 50% ингибирование элонгации цепи. Далее рассчитывалось соотношение этой концентрации к концентрации природного субстрата. Для сравнения использовали 3'-азидо-2',3'-дидезокситимидин-5'-трифосфат (AZTTP). Результаты приведены в Таблице 1.

Как видно из Табл. 1, все соединения обладают высокой активностью в подавлении синтеза ДНК при катализе обратной транскриптазой ВИЧ, но не влияют на синтез ДНК при катализе ДНК-полимеразами человека даже при концентрациях в 25-100 раз более высоких. Они несколько превосходят в этом отношении хорошо известный ингибитор этого фермента AZTTP.

Определение противовирусной активности проводили на клетках фибробластов мыши, инфицированных вирусным конструктором, содержащим обратную транскриптазу вируса лейкемии мышей Молони (Mo-MLV) [10].

Фибробласты крысы линии Rat1 рассеивали на 4-луночные плашки Libco (Flow) 1:10. Через 2 суток клетки заражали вирусом pSG1, собранным со свежего монослоя клеток упаковщиков PA317 и разведенным свежей средой в соотношении 1:10. Исследуемые соединения в 10-кратных серийных разведениях добавляли в культуральную среду в момент заражения. Через 1 сутки среду меняли на свежую и еще через 1 сутки фиксировали, окрашивали Xgal и подсчитывали количество колоний, окрашенных в голубой цвет и, сле-

довательно, экспрессирующих  $\beta$ -галактозидазу *E.coli*, кодируемую вирусом pSG1 [10]. Результаты выражали в % зараженных клеток в присутствии исследуемого соединения по отношению к контролю в отсутствие этого соединения. Каждая точка является средней из 3 параллельных измерений в 2 независимых экспериментах. Стандартные отклонения не превышают 20%. Для сравнения использовали азидотимидин.

В Таблице 2 показаны результаты подавления вируса, выраженные в концентрациях исследуемого соединения, подавляющих вирус на 50 и 90%.

Как видно из таблицы 2, антивирусная активность всех соединений соизмерима с таковой для азидотимидина.

Скорость дефосфорилирования синтезированных соединений в сыворотке крови человека определяли, добавляя по 2,5 мкл 10 мМ растворов всех синтезированных соединений к 47,5 мкл 100% фетальной сыворотки человека. Растворы инкубировали при 37°C и через 2,5, 5, 10, 20, 30, 40, 60, мин, 2, 3, 4, 5, 8, 12, час, 2, 4, 7, и 14 суток, прибавляли по 50 мкл воды и 230 мкл метанола, встряхивали и оставляли на 30 мин при -20°C. Образцы центрифугировали 10 мин при 12000 об/мин, супернатанты концентрировали до 100 мкл и анализировали ВЭЖХ на колонке Nucleosil 120C18 (4x150 мм, 5 мкм) линейным градиентом метанола от 0 до 35% в 0,05 М  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -буфере за 25 мин, скорость потока 0,5 мл/мин. Для сравнения использовали 3'-азидо-2',3'-дидезокситимидин-5'-фосфат и природные субстраты: тимидин-5-трифосфат (dTTP) и 2'-дезоксиаденозин-5'-трифосфат (dATP).

В таблице 3 представлены данные по скорости гидролиза заявляемых соединений в неразбавленной плазме крови человека, характеризующие их стабильность в этих условиях. Кроме того, даны

времена удерживания соединений на твердой фазе при ВЭЖХ, что отражает степень их гидрофобности.

Из таблицы 3 видно, что время гидролиза половинного количества соединений 1 -8 примерно в 2000 раз больше, чем для природных субстратов dTTP и dATP, а также AZTTP. При этом их гидрофобность, пропорциональная времени удерживания при ТСХ, значительно увеличивается, что облегчает их диффузию в клетки.

Таблица 1

Отношение молярных концентраций ингибитора и одноименного природного субстрата 2'-дезоксинуклеозид-5'-трифосфата, при котором для каждой ДНК-полимеразы достигается 50% подавление включения природного субстрата

Вещество	ДНК-полимераза				
	$\alpha$	$\beta$	$\epsilon$	TdT*	OT*
I	>500	>100	>500	>100	1-2
2	>500	>100	>500	>100	3-5
3	>500	>100	>500	>100	3-5
4	>500	>100	>500	>100	1-2
5	>500	>100	>500	>100	2-7
9	>500	>100	>500	>100	2-4
AZTTP**	>500	>100	>500	>100	1-2

\* TdT концевая дезоксинуклеотидилтрансфераза; OT - обратная транскриптаза ВИЧ; \*\*AZTTP - 3'-азидо-2',3'-дидезокситимидин-5'-трифосфат

Таблица 2.

Концентрации исследуемых соединений, подавляющих продукцию вируса на 50 и 90%.

Соединение	Концентрация, подавляющая продукцию вируса на 50%, нМ	Концентрация, подавляющая продукцию вируса на 90%, нМ
6	7	70
8	4	18
9	1	7
AZT	3	12

Таблица 3.

Время полугидролиза ( $T_{1/2}$ ) и время удерживания (ВУ) модифицированных 2'-дезоксинуклеозид-5'-трифосфатов (dNTP)

Вещество	$T_{1/2}$ , дни	ВУ, мин
1	5	8
2	5	18
3	5	26,6
4	5	19
5	5	22,7
6	>>7	21,6
7	5	15,4
8	>>7	28,5
11	5	34,6
9	>>7	12,1
AZTTP*	5 мин	7
dTTP	4 мин	5,4
dATP	18 мин	6,5

\* AZTTP - 3'-азидо-2',3'-дидезокситимидин-5'-трифосфат, dTTP и dATP использовались в качестве контроля.

Для лучшего понимания настоящего изобретения ниже приводятся примеры получения заявляемых соединений.

Пример 1. 5'-(g-Фениламида-б,г-дибромметилендифосфонил-а-фосфонилметил)-5'-дезоксиметил-3'-азидо-3'-дезокситимидин. (Соединение I, В = Thy, R' = N<sub>3</sub>, R''=H, Z=O, R'''=NHPh, X'=X''=Br).

К раствору 0,5 ммоль 3'-азидо-2',3'-дидезокси-4'-нортимидин-4'-норфосфоната в 10 мл ДМФА прибавляют 162 мг (1 ммоль) N,N'-карбонилдиимдазола, перемешивают 2 часа при 20°C, приливают 1 мл метанола, оставляют на 30 мин и упаривают досуха, к остатку прибавляют 1 ммоль g-фениламида дибромметилендифосфоната бистрибутиламмониевой соли, перемешивают 3 час, а при 20°C, приливают 200 мл воды и наносят на колонку (20 x 2,5 см) с Toyopearl DEAE (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Элюцию проводят линейным градиентом буфера NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>, pH 7,5 (0->0,4 М, общий объем 600 мл) с УФ-контролем. Фракции с веществом лиофилизуют, остаток растворяют в 1 мл воды и наносят на колонку (20 x 1,5 см) с LichroPrep RP18. Элюцию проводят водой с УФ-контролем. Раствор, содержащий вещество, лиофилизуют, выход 0,26 ммоль, 52%. УФ-спектр (вода) I<sub>max</sub> 266 nm (ε 9600), <sup>1</sup>H-ЯМР-спектр (D<sub>2</sub>O, d, м.д.): 7.64 m (2H, Ph), 7.32 m (3H, arom), 7.60 s (1H, H-6); 6.30 m (1H, H-1'); 5.52 s (1-H, H-4'); 4.46 m (1-H, H-3'); 3.64 d (2H, J<sub>CH,P</sub>=8.5Гц, P-CH<sub>2</sub>); 2.44 m (1H, H-2'); 1.92 s (3H, CH<sub>3</sub>-Thy); 1.86 d (3H, J<sub>H,P</sub>=17,9Гц, CH<sub>3</sub>PO);. <sup>31</sup>P ЯМР спектр (D<sub>2</sub>O, d, м.д.): 9,58 д (a-P, J<sub>a-b</sub>=33,0 гц), 8,16 д (g -P, J<sub>b-g</sub>=13,85 гц), 0,10 м ( b-P) FAB-mass, m/z: 735 (M<sup>+</sup>+H), 752 (M<sup>+</sup>+H+NH<sub>3</sub>)

Пример 2. 5'-(g-Метил-b,g-дибромметилендифосфонил-а-фосфонилметил)-5'-дезоксиметил-3'-азидо-3'-дезокситимидин.  
(Соединение 2, В=Thy, R'=N<sub>3</sub>, R''=H, Z=O, R'''=OMe, X'=X''=Br).  
Синтез проводят по методике примера 1 исходя из 5'-фосфонилметил-5'-дезоксиметил-3'-азидо-3'-дезокситимидина и бис(трибутиламмонийной) соли метилового эфира дибромметилендифосфоновой кислоты. Выход 0,34 ммоль, 68%. УФ-спектр (вода)  $I_{\max}$  268 nm ( $\epsilon$  9600), <sup>1</sup>H-ЯМР-спектр (D<sub>2</sub>O, d, м.д.): 7.60 м (1H, H-6); 6.30 м (1H, H-1'); 5.60 м (1H, H-4'); 4.38 м (1H, H-3'); 3.64 д (2H, J<sub>CH,P</sub>=8.5 Hz, P-CH<sub>2</sub>); 3.36 (3H, OMe); 2.39 м (1H, H-3'); 1.92 с (3H, Me). <sup>31</sup>P ЯМР спектр (D<sub>2</sub>O, d, м.д.): 10,87 д (а-Р, J<sub>a-b</sub>=35,0 гц), 8,46 д (g-Р, J<sub>b-g</sub>=14,95 гц), -0,12 м (b-Р). FAB-масс, m/z: 679 (M<sup>+</sup>+1).

Пример 3. 5'-(g-Фенил-b,g-дибромметилендифосфонил-а-фосфонилметил)-5'-дезоксиметил-3'-азидо-3'-дезокситимидин  
(Соединение 3, В=Thy, R'=H, R''=H, Z=O, R'''=OPh, X'=X''=Br).  
Синтез проводят по методике примера 1 исходя из 5'-фосфонилметил-5'-дезоксиметил-3'-азидо-3'-дезокситимидина и бис(трибутиламмонийной) соли фенилового эфира дибромметилендифосфоновой кислоты. Выход 0.34 ммоль, 68%. УФ-спектр (вода)  $I_{\max}$  268 nm ( $\epsilon$  9600), <sup>1</sup>H-ЯМР-спектр (D<sub>2</sub>O, d, м.д.): 7.68 м (2H, Ph), 7.32 м (3H, Ph), 7.60 с (1H, H-6); 6.30 м (1H, H-1'); 5.46 м (1H, H-4'); 4.60 м (1H, H-3'); 3.91 д (2H, J<sub>CH,P</sub>=8,5 Гц, P-CH<sub>2</sub>); 2.28 м (1H, H-2'); 1.94 с (3H, CH<sub>3</sub>). <sup>31</sup>P ЯМР спектр (D<sub>2</sub>O, d, м.д.): 11,67 д (а-Р, J<sub>a-b</sub>=33,56 гц), 8,43 д (g-Р, J<sub>b-g</sub>=14,08 гц), 0,05 м (b-Р) FAB-масс, m/z: 741 (M<sup>+</sup>+H), 758 (M<sup>+</sup>+H+NH<sub>3</sub>).

Пример 4. 5'-(g-Фенил-b,g-дибромметилендифосфонил-a-фосфонилметил)-5'-дезоксиметил-3'-азидо-2',3'-дидезоксиуридин (Соединение 4,  $V=Ura$ ,  $R'=N_3$ ,  $R''=H$ ,  $Z=O$ ,  $R'''=OPh$ ,  $X'=X''=Br$ ). Синтез проводят по методике примера 1 исходя из 5'-фосфонилметил-5'-дезоксиметил-3'-азидо-2',3'-дидезоксиуридина и бис(трибутиламмонийной) соли фенилового эфира дибромметилендифосфоновой кислоты. Выход 0.34 ммоль, 68%. УФ-спектр (вода)  $I_{max}$  268 nm ( $\epsilon$  9600),  $^1H$ -ЯМР-спектр ( $D_2O$ , d, м.д.): 7.60 д (1H,  $J=8$  Гц, H-6); 7.68 м (2H, arom); 7.32 м (3H, Ph); 6.22 м (1H, H-1'); 5.80 д (1H,  $J=8$  Гц, H-5); 5.28 м (1H, H-4'); 4.50 м (1H, H-3'); 3.64 д (2H,  $J_{CH,P}=8.5$  Гц, P-CH<sub>2</sub>); 2.22 м (1H, H-2').  $^{31}P$  ЯМР спектр ( $D_2O$ , d, м.д.): 9,24 д (a-P,  $J_{a-b}=30,19$  Гц), 8,86 д (g-P,  $J_{b-g}=13,87$  Гц), 0,23 м (b-P) FAB-масс, m/z: 728 ( $M^++H$ ).

Пример 5. 5'-(g-Фенил-b,g-дибромметилендифосфонил-a-фосфонилметил)-5'-дезоксиметил-3'-азидо-2',3'-дидезокси-5-этилуридин (Соединение 5,  $V=5$ -этилурацил,  $R'=N_3$ ,  $R''=H$ ,  $Z=O$ ,  $R'''=OPh$ ,  $X'=X''=Br$ ). Синтез проводят по методике примера 1, исходя из 5'-фосфонилметил-5'-дезоксиметил-3'-азидо-2',3'-дидезокси-5-этилуридина и бис- (трибутиламмонийной) соли фенилового эфира дибромметилендифосфоновой кислоты. Выход 38%. УФ-спектр (вода)  $I_{max}$  272 nm ( $\epsilon$  12400).  $^1H$ -ЯМР-спектр ( $D_2O$ , d, м.д.): 7.72 д (1H,  $J=7.5$  Гц, H-6); 7.68 м (2H, arom), 7.32 м (3H, Ph), 6.23 м (1H, H-1'); 5.68 д (1H,  $J=7.5$  Гц, H-5); 5.50 м (1H, H-4') 4.46 м (1H, H-3'); 2.55 м (2H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>), 2.42 м (1H, H-2'), 1.37 м (3H, CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>).  $^{31}P$  ЯМР спектр ( $D_2O$ , d, м.д.): 12,34 д (a-P,  $J_{a-b}=36,5$  Гц), 9,13 д (g-P,  $J_{b-g}=14,15$  Гц), 0,05 м (b-P) FAB-масс, m/z: 749 ( $M^++H$ ).



Пример 6. 5'-(g-Фенил-b,g-дибромметилендифосфонил-а-фосфонилметил)-5'-дезоксиметил-2',3'-дидезоксиаденозин (Соединение 6,  $B=Ade$ ,  $R'=R''=H$ ,  $Z=O$ ,  $R'''=OPh$ ,  $X'=X''=Br$ ). Синтез проводят по методике примера 1 исходя из N-защищенного 5'-фосфонилметил-5'-дезоксиметил-2',3'-дидезоксиаденозина и бис(трибутиламмонийной) соли фенилового эфира дибромметилендифосфоновой кислоты. Выход 0,32 ммол, 64%. УФ-спектр (вода)  $I_{max}$  260 nm ( $\epsilon$  15000),  $^1H$ -ЯМР-спектр ( $D_2O$ , d, м.д.): 8.30 c (1H, H-2); 8.09 c (1H, H-8); 7.68 m (2H, arom), 7.32 m (3H, Ph), 6.33 m (1H, H-1'); 5.36 m (1H, H-4'); 3.56 d (2H,  $J = 9,0$  Гц,  $CH_2-P$ ), 2,6-2,3 (4H, H-3', H-2').  $^{31}P$  ЯМР спектр ( $D_2O$ , d, м.д.): 11,82 д (a-P,  $J_{a-b}=34,5$  гц), 8,59 д (g-P,  $J_{b-g}=13,90$  гц), -0,11 м (b-P) FAB-масс, m/z: 707 ( $M^++H$ ), 724 ( $M^++H+NH_3$ ).

Пример 7. 5'-(g-Фенил-b,g-дифторметилендифосфонил-а-фосфонилметил)-5'-дезоксиметил-2',3'-дидезокситимидин (Соединение 7,  $B=Thy$ ,  $R'=R''=H$ ,  $Z=O$ ,  $R'''=OPh$ ,  $X'=X''=F$ ). Синтез проводят по методике примера 1 исходя из 5'-фосфонилметил-5'-дезоксиметил-2',3'-дидезокситимидина и бис(трибутиламмонийной) соли фенилового эфира дифторметилендифосфоновой кислоты. Выход 0,16 ммол, 32%. УФ-спектр (вода)  $I_{max}$  268 nm ( $\epsilon$  9600).  $^1H$ -ЯМР-спектр ( $D_2O$ , d, м.д.): 7.62 м (2H, arom), 7.56 м (1H, H-6), 7.32 м (3H, Ph), 6.04 т (1H,  $J=6.5$  Гц, H-1'); 6.24 м (1-H, H-1'); 5.18 м (1H, H-4'); 3.64 д (2H,  $J = 9,0$  Гц,  $CH_2-P$ ), 2.6-2.2 м (4H, H-3', H-2'); 1.98 c (3H,  $CH_3$ ).  $^{31}P$  ЯМР спектр ( $D_2O$ , d, м.д.): 12,08 д (a-P,  $J_{a-b}=34,5$  Гц), 6,26 д (g-P,  $J_{b-g}=13,86$  Гц), -1,81 м (b-P). FAB-масс, m/z: 572 ( $M^++H$ ), 589 ( $M^++H+NH_3$ ).

Пример 8. 2',3'-Дидезокси-4'-нор-4'-(g-фенил-b,g-дибромметилендифосфо-нил-а-фосфонилметил)-L-карбоаденозин

(Соединение 8,  $B=Ade$ ,  $R'=R''=H$ ,  $Z=CH_2$ ,  $R'''=Ph$ ,  $X'=X''=Br$ ). Синтез проводят по методике примера 1. Выход 0,33 ммоль, 66%. УФ-спектр (вода)  $I_{max}$  260 nm ( $\epsilon$  14600),  $^1H$  ЯМР-спектр ( $D_2O$ , d, м.д.): 8.59 с (1H, H-2); 8.30 с (1H, H-8); 7.82 м (2H, аром), 7.32 м (3H, Ph), 4.95 т (1H,  $J=6.5$  Гц, H-1'); 3.58 д (2H,  $J = 8,5$  Гц,  $CH_2-P$ ), 2.8-2.5 м (3H, H-3',H-5'a); 2.3-2.1 м (2H, H-2'); 1.92 м (1H, H-5'b).  $^{31}P$ -ЯМР-спектр ( $D_2O$ , d, м.д.): 11.82 д (а-Р,  $J_{a-b} = 32.25$  Гц); 0.26 м (b-Р, Гц); 7.80 д (g-Р,  $J_{b-g}=15.18$  Гц). FAB-масс, m/z: 576 ( $M^++H$ ).

Пример 9. 4'-(g-Фенил-b,g-дибромметилендифосфонил-а-метиленфосфо-нил)-2',3'-дидезокси-2',3'-дидегидро-4'-нор-L-карбоаденозин (Соединение 9,  $B=Ade$ ,  $R'$  и  $R''$  образуют двойную связь,  $Z=CH_2$ ,  $R'''=OPh$ ,  $X'=X''=Br$ ). Синтез проводят по методике, аналогичной методике примера 1, исходя из 2',3'-дидезокси-2',3'-дидегидро-4'-нор-L-карбоаденозин-4'-а-метиленфосфоната и дибромметилендифосфоната бис(трибутиламмониевой) соли. Выход 58%.

УФ-спектр (вода)  $I_{max}$  262 nm ( $\epsilon$  14200).  $^1H$ -ЯМР-спектр ( $D_2O$ , d, м.д.): 8.18 с (1H, H-2); 8.16 с (1H, H-8); 7.68 м (2H, Ph), 7.32 м (3H, Ph), 6.13 м (1-H, H-3'); 5.92 м (1H, H-2'); 5.39 м (1H, H-1'); 4.66 с (1H, H-4'); 3.61 д (2H,  $J = 9,0$  Гц,  $CH_2-P$ ), 2.92 м (1H, H-5'a); 1.96 м (1H, H-5'b).  $^{31}P$  ЯМР-спектр ( $D_2O$ , d, м.д.): 11.6 д (а-Р,  $J_{a-b}=35.10$  Гц); 0.29 м (b-Р); 10.7 д (g-Р,  $J_{b-g}=16.3$ ). FAB-масс, m/z: 582 ( $M^++H$ ).

Пример 10. 2',3'-Дидезокси-2',3'-дидегидро--4'-(g-фениламино-b,g-дифтор-метилендифосфонил-а-метиленфосфонил)-4'-норкарбоаденозин (Соединение 10,  $B=Ade$ ,  $R'$  и  $R''$  образуют двойную связь,  $Z=CH_2$ ,  $R'''=NHPh$ ,  $X'=X''=F$ ). Синтез проводят по

методике, аналогичной примеру 1, исходя из 2',3'-дидезокси-2',3'-дидегидро-4'-норкарбаденозин-4'-а-метиленфосфоната и дифтор-метилендифосфоната бистрибутиламмониевой соли. Выход 26%.

УФ-спектр (вода)  $I_{\max}$  260 nm ( $\epsilon$  14100).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\text{D}_2\text{O}$ , d, м.д.): 8.18 с (1H, H-2); 8.16 с (1H, H-8); 7.68 м (2H, Ph), 7.32 м (3H, Ph), 6.24 м (1-H, H-3'); 5.99 м (1H, H-2'); 5.46 м (1H, H-1'); 4.66 с (1H, H-4'); 3.74 д (2H,  $J_{\text{CH,P}}=8.5$  Гц,  $\text{P}-\text{CH}_2$ ), 2.86 м (1H, H-5'a); 1.90 м (1H, H-5'b).  $^{31}\text{P}$ -ЯМР-спектр ( $\text{D}_2\text{O}$ , d, м.д.): 12,97 д (a-P,  $J_{\text{a-b}}=33,5$  Гц), 6,80 д (g-P,  $J_{\text{b-g}}=13,32$  Гц), -0,71 м (b-P). FAB-масс, m/z: 598 ( $\text{M}^++\text{H}$ ).

Пример 11. 2',3'-Дидезокси--4'(g-фенил-b,g-бромметилендифосфонил-а-метиленфосфонил)-4'-нортимидин (Соединение 11,  $\text{B}=\text{Thy}$ ,  $\text{R}'=\text{R}''=\text{H}$ ,  $\text{Z}=\text{O}$ ,  $\text{R}'''=\text{OPh}$ ,  $\text{X}'=\text{H}$ ,  $\text{X}''=\text{Br}$ ). Синтез проводят по аналогичной примеру 1 методике из 2',3'-дидезокси-4'-нортимидин-4'-а-метиленфосфоната и бис(трибутиламмонийной) соли фенилфосфонилбромметиленфосфоната. Выход 0,16 ммол, 32%. УФ-спектр (вода)  $I_{\max}$  268 нм ( $\epsilon$  9600),  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\text{D}_2\text{O}$ , d, м.д.): 7.68 м (2H, arom), 7.32 м (3H, Ph), 7.14 с (1H, H-6); 6.14 т (1H,  $J=6.5$  Гц, H-1'); 5.56 м (1H, H-4'); 3.57 д (2H,  $J_{\text{CH,P}}=8.5$  Гц,  $\text{P}-\text{CH}_2$ ); 2.7-2.2 м (4H, H-2', H-3'); 1.95 с (3H,  $\text{CH}_3$ ).  $^{31}\text{P}$ -ЯМР-спектр ( $\text{D}_2\text{O}$ , d, м.д.): 11,84 д (a-P,  $J_{\text{a-b}}=35,0$  Гц), 9,13 д (g-P,  $J_{\text{b-g}}=13,55$  Гц), 0,05 м (b-P). FAB-масс, m/z: 644 ( $\text{M}^++\text{H}$ ), 661 ( $\text{M}^++\text{H}+\text{NH}_3$ ).

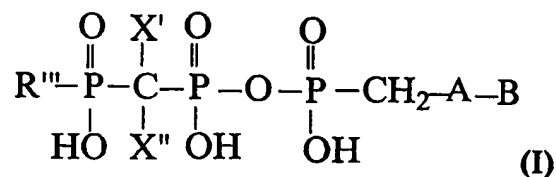
### Промышленная применяемость

Заявленные модифицированные нуклеозид-5'-трифосфаты являются ингибиторами репродукции вируса иммунодефицита че-

ловека, вируса гепатита В, вирусов группы герпеса и могут найти применение в медицине.

## Формула изобретения

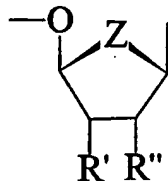
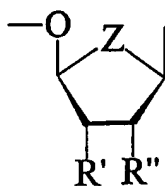
1. Модифицированные нуклеозид-5'-трифосфаты общей формулы:



где:

**B** = тимин, аденин, урацил, гуанин, цитозин или урацил, замещенный в 5-положении

**A** =



(II)

$\text{R}' = \text{H}, \text{N}_3, \text{SH}, \text{NH}_2, \text{F}, \text{Cl}, \text{CN}, \text{NCO}, \text{NCS}, \text{NOH}$

$\text{R}'' = \text{H}$  или  $\text{R}'$  и  $\text{R}''$  вместе образуют двойную связь

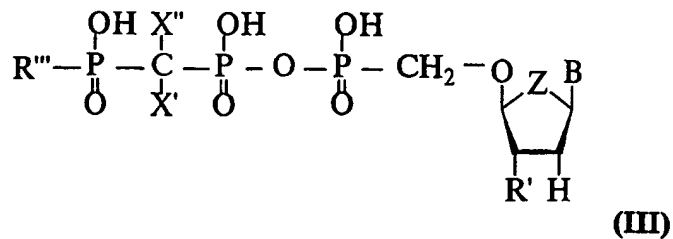
$\text{Z} = \text{O}, \text{CH}_2$

$\text{R}''' = \text{Alkyl}, \text{Aryl}, \text{OAlkyl}, \text{OAryl}, \text{NHAlkyl}, \text{NHAryl}, \text{O-Gly}$

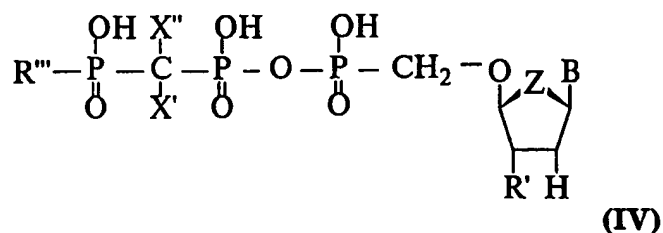
$\text{X}' = \text{X}'' = \text{H}, \text{Br}, \text{F}$ ; или  $\text{X}' = \text{H}$ , а  $\text{X}'' = \text{F}, \text{Br}, \text{NH}_2, \text{CH}_2\text{NH}_2,$

$\text{NHAlk}, \text{NHAryl}$ ; или  $\text{X}' = \text{F}$ , а  $\text{X}'' = \text{Br}$ ; или  $\text{X}' = \text{CH}_3$ , а  $\text{X}'' = \text{NH}_2$ .

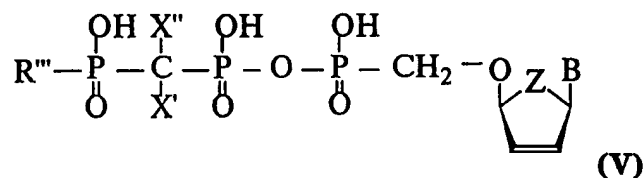
2. Модифицированные нуклеозид-5'-трифосфаты по п. 1, которые относятся к D-ряду и в которых  $\text{R}'' = \text{H}$  формулы:



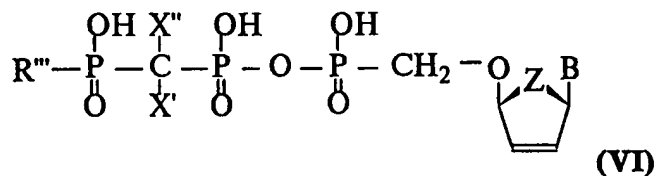
3. Модифицированные нуклеозид-5'-трифосфаты по п. 1, которые относятся к L-ряду и в которых R''=H формулы:



4. Модифицированные нуклеозид-5'-трифосфаты по п. 1, которые относятся к D-ряду и в которых R' и R'' вместе образуют двойную связь формулы:



5. Модифицированные нуклеозид-5'-трифосфаты по п. 1, которые относятся к L-ряду и в которых R' и R'' вместе образуют двойную связь формулы:



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/RU 97/00348

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC<sup>6</sup>: C07H 19/10, 19/207

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC<sup>6</sup>: C07H 19/10, 19/207; A61K 31/665, 31/675, 31/70

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DE 3543346 A1 (BORYUNG PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 12 June 1986 (12.06.86)	1-5
A	SU 455958 A (L.N. NIKOLAIENKO et al) 20 June 1975 (20.06.75)	1-5
A	GB 2150570 A (SRI INTERNATIONAL) 03 July 1985 (03.07.85) abstract	1-5
A	EP 0398231 A2 (BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY) 22 November 1990 (22.11.90)	1-5
A	WO 90/06320 A1 (KALLANDER) 14 June 1990 (14.06.90) pages 3-4	1-5
A	EP 0097376 A1 (YAMASA SHOYU KABUSHIKI KAISHA) 04 January 1984 (04.01.84) page 2, lines 1-22	1-5

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

03 February 1998 (03.02.98)

Date of mailing of the international search report

12 March 1998 (12.03.98)

Name and mailing address of the ISA/

RU

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

# ОТЧЕТ О МЕЖДУНАРОДНОМ ПОИСКЕ

Международная заявка №  
PCT/RU 97/00348

## A. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:

C07H 19/10, 19/207

Согласно международной патентной классификации (МПК-6)

## B. ОБЛАСТИ ПОИСКА:

Проверенный минимум документации (система классификации и индексы) МПК-6

C07H 19/10, 19/207; A61K 31/665, 31/675, 31/70

Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в поисковые подборки:

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если возможно, поисковые термины):

## C. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
A	DE 3543346 A1 (BORYUNG PHARMACEUTICAL CO., LTD.) 12. 6. 86	1-5
A	SU 455958 A (Л.Н.НИКОЛАЕНКО и др.) 20.06.75	1-5
A	GB 2150570 A (SRI INTERNATIONAL) 3 Jul 1985, реферат	1-5
A	EP 0398231 A2 (BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY) 22.11.90	1-5
A	WO 90/06320 A1 (KALLANDER) 14 June 1990, p. 3-4	1-5
A	EP 0097376 A1 (YAMASA SHOYU KABUSHIKI KAISHA) 04.01.84, с.2 строки 1-22	1-5

☐ последующие документы указаны в продолжении графы C.

☐ данные о патентах-аналогах указаны в приложении

\* Особые категории ссылочных документов:

"А" документ, определяющий общий уровень техники

"Е" более ранний документ, но опубликованный на дату международной подачи или после нее

"О" документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.

"Р" документ, опубликованный до даты международной подачи, но после даты испрашиваемого приоритета

"Т" более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения

"Х" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну и изобретательский уровень

"У" документ, порочащий изобретательский уровень в сочетании с одним или несколькими документами той же категории

"&" документ, являющийся патентом-аналогом

Дата действительного завершения международного поиска  
03 февраля 1998 (03.02.98)

Дата отправки настоящего отчета о международном поиске:  
12 марта 1998 (12.03.98)

Наименование и адрес Международного поискового органа:  
Всероссийский научно-исследовательский институт государственной патентной экспертизы,  
Россия, 121858, Москва, Бережковская наб., 30-1

Факс: 243-3337, телетайп: 114818 ПОДАЧА

Уполномоченное лицо:

Н.Куликова

Телефон №: (095)240-5888

Форма PCT/ISA/210 (второй лист) (июль 1992)